

## 脂質組成の非対称性を考慮した モデル脂質二重膜の分子動力学計算

<sup>1</sup>名大院工, <sup>2</sup>名大院工 計算科学連携教育研究センター  
早川 志保<sup>1</sup>, ○安藤 嘉倫<sup>2</sup>, 岡崎 進<sup>1,2</sup>

### Molecular Dynamics Calculations of Lipid Bilayers with Asymmetric Lipid Composition between Leaflets

Shiho Hayakawa<sup>1</sup>, ○Yoshimichi Andoh<sup>2</sup>, Susumu Okazaki<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Department of Materials Chemistry, Nagoya University, Japan

<sup>2</sup> Center for Computational Science, Graduate School of Engineering, Nagoya University, Japan

**【Abstract】** We previously performed molecular dynamics (MD) calculations of lipid bilayers modeling lipid composition of real plasma membranes[1,2]. However, the models lacked an important feature of plasma membranes, an asymmetric lipid composition between outer and inner leaflets. In this study, we constructed two model lipid bilayers which contain the essence of the asymmetric lipid composition of hepatocyte plasma membranes, and carried out long-time MD calculations under a physiological condition. We found that membrane properties significantly differ between these outer and inner leaflet models. Further, we confirmed that membrane properties measured for each leaflets correlate with each other.

**【序】** これまで胸腺細胞および肝臓細胞の細胞膜についてその細胞膜脂質組成を模した脂質二重層モデル膜に対して生体温度・圧力条件下での分子動力学 (MD) シミュレーションを行うことにより、これら膜間にある膜物性の差異を分子レベルから明らかにしてきた[1,2]。しかしながら脂質二重層モデル膜の脂質組成が単層膜ごとに同じすなわち対称であるという点で、実際の細胞膜でのそれと異なるというモデル化上の問題があった。本研究では肝臓細胞の細胞膜を例にその非対称な脂質組成を考慮した脂質二重層モデル膜を構築し生体条件下での長時間 MD 計算を行うことで、実際の細胞膜で生じている単層膜間での物性の違いおよび単層膜間での物性の相関を明らかにすることを目的とする。

**【計算方法】** 前提として脂質組成に非対称性のある二重層モデル膜系を脂質分子あたりの平衡面積などの前知識なく設計することは難しい。そのためまず細胞膜の外単層膜および内単層膜それぞれ2つからなる二重層モデル膜についてのMD計算を行い、膜構造についての基本的知見を得たのちに非対称脂質二重層膜を構築する研究手順とした。表1には構築した外単層および内単層モデル二重層膜の詳細を示す。脂質種としては先行研究[2]と同じくグリセリン脂質 (PC, PE, PS および PI), スフィンゴミエリン(SM)およびコレステロールを考慮しそのモル分率を実験値に一致させた。リン脂質についてはその尾部の不飽和度およびその割合についても実験値を参考に決定した。その特徴として外単層モデル膜は電氣的に中性な PC および SM から構成され炭素数の多い飽和尾部がほとんどを占める。一方内単層モデル膜は電氣的に中性な PE, および一価アニオン脂質である PS および PI から構成され不飽和尾部が支配的である。コレステロールについてはミエリン鞘細胞膜において得られている一般的知見[3,4]を参考に内外単層膜への分配比を決定した。さらに各モデル二重層膜の上下に系を電氣的に中性化するカウンターイオンおよび細胞内外でのイオン濃度 ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ) の違いを反映させた電解質水溶液を設置した。計算結果のシステムサイズおよび

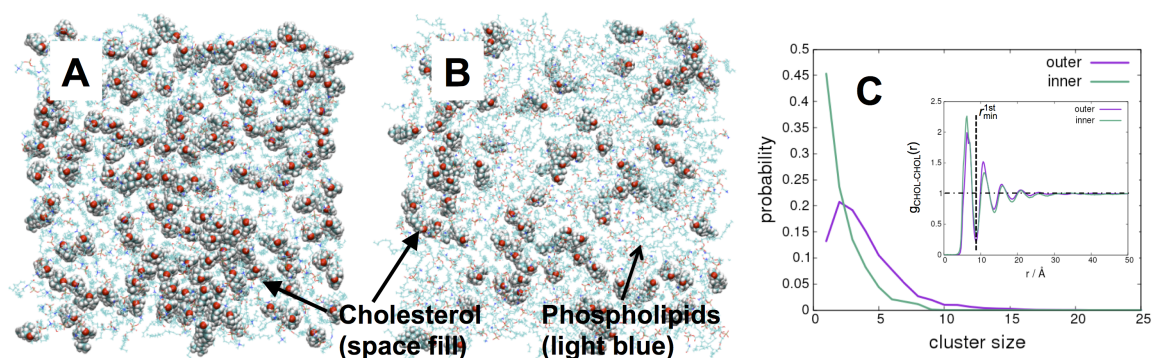
初期配置依存性を調べるために、単層あたりの脂質分子数を 64 および 256 とした系を用意した上で、それぞれについて脂質側方配置の異なる初期座標を 3 つ用意した。三次元周期境界条件下 *NPT* 一定条件 (温度  $T=310.15\text{K}$ , 圧力  $P=1\text{ atm}$ ) での MD 計算を小さな系で  $1\ \mu\text{ sec}$ , 大きな系で  $400\text{ ns}$  行った。以下では大きな系での解析結果を示す。

**Table 1.** Composition of lipid bilayers modeling outer and inner leaflets of hepatocyte plasma membranes.

Outer leaflet model	Lipid composition / mol%				PLs tail composition / mol%			
	CH	PC	SM	Lyso-PC	Sat.	Mono-unsat.	Poly-unsat.	
	50	23	20	7	73	12	15	
Inner leaflet model	CH	PE	PS	PE	Lyso-PS	Sat.	Mono-unsat.	Poly-unsat.
	30	36	24	7	3	48	6	46

CH: cholesterol, PC: phosphatidyl-choline, SM: sphingomyelin, PE: phosphatidyl-ethanolamine, PS: phosphatidyl-serine, PI: phosphatidyl-inositol, PLs: phospholipids, Sat.: saturated, unsat.: unsaturated

**【結果・考察】** 解析は膜構造、膜の静的および動的物性について行った。熱平衡状態において内単層モデル膜は外単層モデル膜にくらべ即方向に広がった柔らかい構造を持つこと、膜垂直方向 ( $z$  軸) に沿った電子密度プロファイルがミエリン鞘細胞膜での測定値と定性的に一致すること、コレステロールと脂質尾部ないしはコレステロールどうしの側方配置の相関が同じ単層膜内だけでなく反対の単層膜にもおよんでいることを明らかにした(3P073 の講演要旨を参照)。さらに動的物性について、脂質分子の平均二乗変位から計算された側方自己拡散係数は外単層モデル膜において  $1.2 \times 10^{-12}\text{ m}^2/\text{s}$  内単層モデル膜において  $9.1 \times 10^{-12}\text{ m}^2/\text{s}$  であり、膜流動性が内外単層モデル膜間で大きく異なることがわかった。さらに図 1 に示すように 30 mol% のコレステロール濃度にある内単層モデル膜においてコレステロールクラスターのサイズ分布が指数関数的に減少する一方、50 mol% のコレステロール濃度にある外単層モデル膜では 2, 3, 4 量体の存在確率がモノマーの存在確率に比べ大きい特徴的なサイズ分布を示すことがわかった。その他の解析からコレステロールの側方凝集および離散が単層膜間で協同的に生じていることが確認されておりそのメカニズムを探っている。



**Fig. 1.** Cholesterol lateral clustering viewed from the  $z$  axis (panel A: outer leaflet model, panel B: inner leaflet model). Probability distribution of cluster sizes (panel C) where connections are defined if  $r \leq r_{\text{min}}^{\text{1st}}$ .

**【結言】** 本研究により肝臓細胞膜の内外単層モデル膜間での物性の違いについて基本的知見が得られた。今後、脂質組成に非対称性を持つ二重層膜計算系を新たに構築し細胞膜において生じている単層膜間での物性の相関の実際を明らかにする。

**謝辞:** 本研究は JSPS 科研費 16K21094 の助成を受けたものです。

**【参考文献】** [1] Y. Andoh *et al. Biochim. Biophys. Acta.-Biomembr.* **1828**, 1259 (2013). [2] Y. Andoh *et al. J. Chem. Phys.* **144**, 085104 (2016). [3] D. L. D. Caspar *et al. Nature New Biology.* **231**, 46 (1971). [4] M.B. Bretscher, *Science*, **181**, 622 (1973).